

## Trabajos Originales

# Utilidad de dos técnicas serológicas para IgA humana antitoxoplasma como pruebas de referencia para toxoplasmosis materna, reciente

María Teresa Montoya, Jorge Enrique Gómez, Nelsy Loango, Jhon Carlos Castaño, Cathy Marx, Frederique Foudrinier, Dominique Aubert, Annie Bonhomme, Jean Michel Pinon

**Objetivo:** evaluar dos técnicas que miden la IgA anti-toxoplasma para utilización como pruebas de referencia, en un programa de control de la toxoplasmosis materna.

**Tipo de estudio:** evaluación de prueba diagnóstica.

**Sitio donde se realizó el estudio:** Laboratorio de Referencia para

Toxoplasmosis, Universidad del Quindío y Laboratorio de Parasitología del Hospital Maison Blanche, Reims, Francia.

**Sueros analizados y procedencia:** veintinueve sueros de pacientes con criterios serológicos de toxoplasmosis reciente, 46 sueros de pacientes con infección toxoplásmica crónica y 43 sueros de pacientes con ausencia de criterios serológicos de infección toxoplásmica. Todos los sueros procedían de madres que participan en el programa de control prenatal del Instituto Seccional de Salud del Quindío.

**Resultados:** la técnica ELISA-IgA con un punto de corte a un índice de fijación de 1,1 tuvo sensibilidad de 72% para detectar casos agudos y especificidad de 76% en sueros con infección crónica y de 92% en sueros no reactivos. La técnica ISAgA-IgA en el mismo grupo de pacientes demostró sensibilidad de 97% para detectar casos agudos y especificidad de 97% en sueros de pacientes crónicos y de 100% en sueros no reactivos. A partir de estos datos se realizó una simulación de los valores predictivos positivos y negativos que se pueden esperar en las condiciones epidemiológicas del Departamento del Quindío.

**Conclusión:** el conjunto de datos obtenidos demuestra que en sueros de madres colombianas la mejor técnica para utilización como prueba de referencia en un programa de control de la toxoplasmosis materna es la prueba ISAgA-IgA.

## Introducción

La toxoplasmosis es una zoonosis causada por el *Toxoplasma gondii*, parásito intracelular obligado de la subclase *coccidia*. El *T. gondii* es adquirido por el hombre al ingerir alimentos, tierra y aguas contaminadas con heces de gato que contengan ooquistes (forma de resistencia en el medio exterior) o carne mal cocida o cruda con bradizoítos (formaquistica tisular). La infección es benigna en el adulto con adecuado sistema inmunitario y generalmente asintomática o con síntomas no específicos. Sin embargo, puede inducir abortos o malformaciones neonatales severas en bebés infectados durante la

Dras. María Teresa Montoya y Nelsy Loango Chamorro: Centro de Investigaciones "Manuel Eikin Patarroyo", Facultad de Medicina, Universidad del Quindío. Armenia; Dr. Jorge Enrique Gómez Marín: Profesor Asistente Grupo de Patología Infecciosa, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia; Dres. Cathy Marx, Frederique Foudrinier, Dominique Aubert, Annie Bonhomme, Jean Michel Pinon: Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, UFR Médecine, Centre des Biomolécules Université de Reims (Francia).

Trabajo financiado por una beca de formación de investigadores Crédito BID - Colciencias.

gestación. La infección primaria en mujeres embarazadas no se reconoce clínicamente en cerca de 90% de los casos, su diagnóstico se basa en pruebas inmunológicas. Clásicamente el estudio de inmunidad antitoxoplasma involucra la titulación de anticuerpos IgG, los cuales reflejan inmunidad al parásito y de los IgM, que sugieren una infección aguda. La detección de IgM antitoxoplasma por las técnicas de inmunocaptura asegura una excelente sensibilidad, sin embargo su utilización durante la gestación presenta dos inconvenientes. De una parte la IgM residual, se encuentra en toxoplasmosis antigua, incluso hasta después de dos años de ocurrida la infección, y de otra parte la existencia de IgM «naturales» que producen reacciones serológicas positivas en sujetos libres de infección. La mayor utilidad de la prueba específica para IgM es para determinar si una mujer embarazada no se ha infectado recientemente. Una prueba negativa por las técnicas de inmunocaptura descarta virtualmente la infección reciente (1).

Buscando otros marcadores serológicos de infección reciente, se estudiaron los isotipos IgA. Las pruebas para los anticuerpos IgA antitoxoplasma han demostrado ser de gran utilidad para el diagnóstico precoz en recién nacidos con infección congénita (2). De otro lado la presencia de IgA contra *T. gondii* también se ha reportado en pacientes adultos con infección adquirida reciente (3). En algunos estudios previos fue detectada durante la fase aguda de la toxoplasmosis hasta en 80 a 95% de los casos y fue detectada de manera menos frecuente en los sueros de pacientes con infección crónica, que las IgM. Los méto-

dos más utilizados para la determinación de IgA antitoxoplasma son las técnicas ELISA e ISAgA. En la técnica ELISA se utiliza como anticuerpo secundario un anticuerpo monoclonal anti-p30 conjugado a la peroxidasa. La proteína p30 es expresada por los taquizoítos (forma de replicación rápida) que provocan una respuesta inmune en estados tempranos de infección por *T. gondii*. La técnica ISAgA es la otra técnica utilizada para detección de IgA antitoxoplasma y esta se basa en el método de inmunocaptura empleando como antígeno una suspensión de taquizoítos enteros de *T. gondii* en formol (1).

Nosotros quisimos estudiar la aplicabilidad de la técnica Plateia IgA (basada en el principio ELISA) y de ISAGA-IgA (basada en los principios de inmunocaptura) en sueros de pacientes colombianos. Comparamos la sensibilidad y especificidad para detectar casos de toxoplasmosis reciente a partir de los resultados obtenidos en pacientes con diferentes estados de la infección (no infectado, fase aguda y fase crónica). Esto nos permitió establecer curvas de evolución de los valores predictivos negativos y positivos en función de la prevalencia, incluyendo aquellas que han sido determinadas según nuestras estimaciones sobre la frecuencia de toxoplasmosis materna adquirida durante el período de concepción en el Quindío (4). Queremos enfatizar que en el presente trabajo buscamos evaluar la eficacia de las pruebas para detectar casos agudos de toxoplasmosis (que nosotros también llamamos toxoplasmosis activa para denotar su importancia clínica) más que de evaluar la detección de IgA específica. En efecto, en

el caso de la toxoplasmosis materna es crucial distinguir entre la anterior al embarazo y la de adquisición reciente. De esta manera los resultados que buscamos en sensibilidad y especificidad fueron influidos por características propias del grupo de pacientes estudiados. En el caso de IgA antitoxoplasma esto estaría directamente relacionado con el tiempo promedio de persistencia de IgA, luego de una infección por *T. gondii* que puede ser de uno a dos años. Por lo tanto el período de detección por una técnica dada, puede ser demasiado largo y no tener utilidad en el diagnóstico de toxoplasmosis materna reciente. Así pues nuestra evaluación no pretende tanto buscar la mejor prueba para detectar IgA antitoxoplasma sino la prueba que midiendo IgA antitoxoplasma permita distinguir entre un caso reciente y uno anterior al período concepcional.

## Material y método

### *Pacientes y sueros*

Fueron probados 118 sueros provenientes de mujeres embarazadas que asistían a control prenatal. Las muestras se clasificaron en tres grupos:

**Grupo 1:** cuarenta y tres sueros de pacientes no infectados por *Toxoplasma*. Estos tenían pruebas serológicas IFI-IgG anti-Toxoplasma no reactivas por lo menos en dos muestras secuenciales, tomadas con intervalo de un mes. Se utilizó la primera muestra no reactiva.

**Grupo 2:** cuarenta y seis sueros de pacientes con toxoplasmosis crónica inactiva. Estos sueros presentaron reactividad sólo por la técnica IFI-IgG antitoxoplasma a títulos menores de 1:256, títulos

que permanecieron estables en una segunda muestra tomada cuatro semanas más tarde.

**Grupo 3:** veintinueve sueros de pacientes con toxoplasmosis aguda o activa. Estos presentaron reactividad a la técnica IFI-IgG antitoxoplasma mayor a 1:1024 y aumento mayor a dos veces en el título de anticuerpos por la misma técnica IFI-IgG en muestras secuenciales, así como una prueba ISAgA-IgM positiva mayor de nueve puntos. Se utilizó el primer suero obtenido y cada uno de los 29 sueros estudiados correspondió a 29 pacientes diferentes.

#### *Método ELISA para IgA*

La técnica ELISA se realizó utilizando el estuche comercial Platelia (Sanofi-Diagnostic Pasteur, Francia, Ref. 72733-72750). Este estuche se basa en el principio de doble sándwich ELISA para la detección de IgA antitoxoplasma. Las placas suministradas en el estuche se sensibilizan con anticuerpos anticadena alfa de la IgA humana. El antígeno proviene de fracciones liofilizadas de membrana de la cepa RH de *T. gondii*, obtenida a partir de cultivo celular de células Hep-2. El anticuerpo secundario es un monoclonal anti-p30 conjugado a la peroxidasa. Las incubaciones de los sueros fueron a 37°. La reacción fue detenida con HCl IN. La revelación enzimática fue obtenida con el sustrato p-nitrofenilfosfato 1 mg/ml en tampón de dietanolamina pH 9,8. La lectura se realizó en un lector de ELISA Dynatech MR5000 a 450 nm y con filtro de referencia a 630 nm. Los resultados de la absorbancia (estimada en valores de densidad óptica o DO) de cada muestra estudiada se llevaron a unidades de índice de fijación. El índice de fijación se

calculó según la fórmula siguiente:

Índice de fijación =  $\frac{DO \text{ muestra} - DO \text{ promedio del suero control de valor límite}}{DO \text{ del suero de valor positivo} - DO \text{ promedio del suero control de valor límite}} \times 10$ . El suero correspondiente al control de valor límite y el de valor positivo para la prueba fueron ambos suministrados con el estuche. La eficiencia de la prueba fue luego evaluada tomando como puntos de corte diferentes índices de fijación mayores de uno.

#### *Método de ISAgA-IgA*

Se sensibilizaron microplacas de fondo redondo (NUNC, USA, Ref. 262162) con un anticuerpo monoclonal anti-IgA (Laboratorios Tago Immunologicals, código 4101) diluido en tampón acetato pH 4.0/aldehído pirúvico 3%. La concentración final del anticuerpo fue de 2  $\mu\text{g/ml}$ . Se incubó una hora a 37°. En cada pozo se añadieron 200  $\mu\text{l}$  de solución de conservación (albúmina bovina fracción V 1% y Azida de Sodio Sigma Ref. S-8032 1%, diluidas en tampón fosfato buffer pH 7,4 - PBS bioMérieux France-). Las placas se conservaron a 4°C en esta solución mínimo cinco días antes de utilizarlas. Se prepararon diluciones 1:100 con PBS (bioMérieux, France), se desechó la solución conservadora, se lavó tres veces con PBS. Luego de secar completamente, se dividió la placa en cuatro columnas de tres pozos. En cada serie de tres pozos se colocaron 100  $\mu\text{l}$  de la dilución del suero (1/100) y se incubó a 37°C durante 2h 45 min. Las placas se lavaron con PBS-tween 0,5% tres veces y, luego de secar, se distribuyó el antígeno (taquizoítos formalizados de la cepa RH de *T. gondii*) preparado

y donado por el Laboratorio de Parasitología del Hospital "Maison Blanche" de Reims (Francia). El antígeno se distribuyó diluido 1:17 en PBS (bioMérieux, Francia). En el primer pozo se distribuyeron 100  $\mu\text{l}$  del antígeno diluido (conteniendo 1,5  $\times 10^6$  taquizoítos), en el segundo 150  $\mu\text{l}$  (conteniendo 2  $\times 10^6$  taquizoítos) y en el tercero 200  $\mu\text{l}$  (conteniendo 2,5  $\times 10^6$  taquizoítos). Las microplacas se dejaron en reposo libres de corriente durante 18 horas a temperatura ambiente. La lectura se hizo visualmente. El puntaje se adjudicó a cada pozo entre cero (sedimentación completa con formación de un punto de aglutinación) y cuatro (formación de un tapiz recubriendo el fondo del pozo sin punto de aglutinación). El puntaje total para cada suero se reportó de acuerdo al resultado de la adición de las cruces de aglutinación en los tres pozos. Este varía entre cero (ausencia de aglutinación) y 12 (cuatro cruces de aglutinación en los tres pozos). El punto de corte para considerar un suero con IgA anti-Toxoplasma positivo fue a partir de cuatro cruces (luego de adición de los tres pozos).

#### *Análisis de las pruebas*

El análisis de los resultados obtenidos por cada técnica se realizó según las fórmulas descritas por Riegelman y Hirsch (5) para sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos. La concordancia se calculó como el porcentaje de pruebas que tuvieron el mismo resultado por las técnicas ISAgA-IgA y ELISA-IgA sobre el total de sueros estudiados. La eficiencia fue el porcentaje total de resultados correctos (total de verdaderos positivos y verdaderos negativos sobre el

total de pruebas realizadas). La razón de probabilidades para un resultado positivo o para un resultado negativo se calculó según la descripción de Jaesche et al (6).

### Resultados

Se compararon los resultados de cada prueba (ELISA-IgA e ISAgA-IgA) determinando la sensibilidad y la especificidad para casos de toxoplasmosis activa frente a dos grupos de pacientes. Una primera comparación se hizo frente a los casos de toxoplasmosis crónica, es decir los sueros de pacientes que presentaban anticuerpos IgG. Esto permite simular la utilización de la prueba IgA como de segunda intención en el caso que se decida utilizar sobre aquellos sueros presentando anticuerpos IgG antitoxoplasma. En seguida se compararon los resultados para detectar toxoplasmosis activa frente a sueros no reactivos. Esto simula la condición para determinar casos cuando se quiere hacer diagnóstico precoz utilizando la IgA antitoxoplasma como de segunda intención luego que una prueba para IgG (en este caso IFI-IgG) ha resultado negativa.

En la Figura 1 mostramos la curva de características operativas del receptor obtenida en función de diferentes índices de fijación utilizados como punto de corte para ELISA-IgA frente a cada grupo de pacientes. Igualmente se calculó la razón de probabilidades que tiene mayor interés frente a casos individuales y los porcentajes de eficiencia para la técnica (Tabla 1). El índice de fijación de 1,1 obtuvo los mayores porcentajes de eficiencia y fue escogido para las siguientes comparaciones (Tablas 2 y 3).

Las Tablas 4 y 5 muestran los re-

sultados de sensibilidad y especificidad, y las razones de probabilidades para un resultado positivo o un resultado negativo así como la eficiencia para ISAgA-IgA. A diferencia de ELISA-IgA, no estimamos interesante mostrar los cálculos con diferentes puntos de corte para ISAgA-IgA pues se obtuvo una eficiencia muy alta con el punto de corte de cuatro puntos, tal como es reportado por otros autores (7).

La concordancia (porcentaje de sueros presentando el mismo resultado por las dos técnicas ELISA-IgA e ISAgA-IgA) utilizando como punto de corte el índice de fijación 1,1 para ELISA-IgA, fue de 72% para detectar los casos de toxoplasmosis activa, del 73% para determinar los casos de toxoplasmosis crónica como no activos y de 90% para los casos de sueros no reactivos. La concordancia global fue de 79,6%. Dos casos de sueros discrepantes se deben resaltar. Así el único suero de toxoplasmosis activa que no fue detectado por ISAgA-IgA (puntaje de dos), sí lo fue por ELISA-IgA con un índice de fijación de 3,2. De otra parte un suero de toxoplasmosis crónica tuvo un resultado por ISAgA-IgA de 4 y por ELISA-IgA fue de 0,4. Un aspecto importante que quisi-

mos examinar fue referente a la evolución en función de la prevalencia de los valores predictivos positivos o VPP y negativos o VPN. La Figura 2 muestra la evolución de la curva de VPP de acuerdo a si es utilizada para pacientes con sueros positivos para IFI-IgG (comparación frente a casos crónicos) o con sueros negativos (comparación con sueros no reactivos por la técnica IFI-IgG). La misma evolución se muestra en la Figura 3 para los VPN.

A partir de los datos que hemos obtenido sobre la frecuencia de la infección durante el embarazo en el departamento del Quindío (4) nos es posible estimar el exceso de falsos positivos y negativos para toxoplasmosis activa que se podría encontrar, si la prueba fuera utilizada en un programa de control para toxoplasmosis adquirida durante el embarazo. Los cálculos fueron efectuados de acuerdo con los resultados obtenidos de sensibilidad y especificidad frente al grupo de sueros no reactivos. Esto quiere decir que la simulación va a representar la situación en la cual se utiliza la prueba sobre sueros no reactivos por técnica IFI-IgG que fue donde se obtuvo el mayor porcentaje de eficiencia para ambas técnicas.

Índice de fijación del punto de corte	ELISA IgA Razón de probabilidades (RP) frente a sueros crónicos		ELISA IgA Eficiencia frente a sueros crónicos	ELISA IgA Razón de probabilidades (RP) frente a sueros IgG no reactivos		ELISA IgA Eficiencia frente a sueros IgG no reactivos
	RP para un resultado positivo	RP para un resultado negativo		RP para un resultado positivo	RP para un resultado negativo	
1,1	3	0,36	0,74	9	0,3	0,83
1,6	3	0,61	0,70	0	0,52	0,79
2,1	4	0,62	0,72	0	0,56	0,77
2,6	3,3	0,7	0,69	0	0,63	0,75
3,1	3	0,8	0,64	0	0,73	0,70
3,6	4	0,8	0,66	0	0,8	0,68

Tabla 1. Evolución de la razón de probabilidades (RP) y del porcentaje de eficiencia para ELISA-IgA en función de diferentes índices de fijación como punto de corte.

## IgA en toxoplasmosis materna

	Toxo-activa	Toxo-crónica	Total
ELISA-IgA (+)	21	11	32
ELISA-IgA (-)	8	35	43
Total	29	46	75
Sensibilidad			72%
Especificidad			76%
RP para un resultado positivo	3		
RP para un resultado negativo	0,36		
Eficiencia			74.6%

**Tabla 2.** Resultados ELISA-IgA frente a sueros de pacientes con toxoplasmosis crónica.

	Toxo-activa	Toxo-negativos	Total
ELISA-IgA (+)	21	4	25
ELISA-IgA (-)	8	39	47
Total	29	43	72
Sensibilidad			72%
Especificidad			92%
RP para un resultado positivo			9
RP para un resultado negativo			0,3
Eficiencia			83.3%

**Tabla 3.** Resultados de sensibilidad, especificidad y de la razón de probabilidades (RP) de la prueba ELISA-IgA frente a sueros de pacientes IgG antitoxoplasma no reactivos.

	Toxo-activa	Toxo-crónica	Total
ISAgA-IgA (+)	28	1	29
ISAgA-IgA (-)	1	45	46
Total	29	46	75
Sensibilidad			97%
Especificidad			97%
RP para un resultado positivo			44,1
RP para un resultado negativo			0,03
Eficiencia			97%

**Tabla 4.** Resultados de sensibilidad, especificidad y de la razón de probabilidades (RP) de la prueba ISAgA-IgA frente a sueros de pacientes con toxoplasmosis crónica.

	Toxo-activa	Toxo-negativos	Total
ISAgA-IgA (+)	28	0	28
ISAgA-IgA (-)	1	43	44
Total	29	43	72
Sensibilidad			97%
Especificidad			100%
RP para un resultado positivo			0
RP para un resultado negativo			0,03
Eficiencia			98.6%

**Tabla 5.** Resultados de sensibilidad, especificidad y de la razón de probabilidades (RP) de la prueba ISAgA-IgA frente a sueros de pacientes con IgG antitoxoplasma no reactivos.

Partiendo de una población de 10.000 embarazadas, que es el número anual de gestantes esperadas en el departamento del Quindío, se supone que luego de una prueba IFI-IgG, 40% serán negativas. Dentro de este grupo (4.000 gestantes) 2,8% tienen riesgo de adquirir una toxoplasmosis durante el período de embarazo, es decir 112 gestantes. De acuerdo con los valores de sensibilidad y especificidad para cada técnica obtenidos en el presente estudio y con una frecuencia de 2,8% de toxoplasmosis activa con ELISA-IgA el VPP es de 18,57% y el VPN es de 99,1%. Para ISAgA-IgA el VPP es de 100% y el VPN de 99,9%. Así, sobre 4.000 pruebas en esta población se detectarían con ELISA IgA 21 casos sobre 112 casos de toxoplasmosis materna (21/112 o sea 18,5% según el VPP) y sobre las 3888 madres sin infección toxoplásmica reciente, 3853 (o sea el 99,1% según el VPN) serían correctamente diagnosticadas lo cual permite deducir que existirían 35 falsos positivos. En el caso de ISAgA-IgA con 100% de VPP, los 112 casos serían diagnosticados y 3884 de los 3888 serían correctamente diagnosticadas como negativas para toxoplasmosis reciente, lo cual permite deducir que sólo existirían 4 falsos positivos. A partir de estas estimaciones, si se utiliza ELISA-IgA existirían un total de 91 gestantes con toxoplasmosis aguda no diagnosticadas (falsos negativos) y un total de 35 gestantes sin infección aguda que serían falsos positivos. En contraste, utilizando ISAgA-IgA en las mismas condiciones el total de gestantes con toxoplasmosis aguda no diagnosticada (falsos negativos) sería de 0 y el total de falsos positivos sería so-

lamente de cuatro casos.

### Discusión

Un primer aspecto que debe discutirse se relaciona con los criterios utilizados para la conformación de los grupos estudiados. Esto puede causar confusión entre los no familiarizados con el problema del diagnóstico clínico de la toxoplasmosis. El grupo de casos con toxoplasmosis aguda se conforma con base en hallazgos serológicos. Como se trata de evaluar la utilización de una prueba en un grupo de pacientes no inmunodeficientes, no es posible esperar obtener criterios basados en aislamiento del parásito. Los criterios diagnósticos en el paciente inmunocompetente son esencialmente serológicos. Por esta razón nuestro estudio se realizó con sueros de pacientes que inequívocamente evocaban una toxoplasmosis adquirida recientemente, que también denominamos como toxoplasmosis activa. Nuestro interés mayor fue seleccionar entre dos técnicas que miden los anticuerpos IgA antitoxoplasma específicos para detectar casos de toxoplasmosis reciente durante el período gestacional. Estas técnicas se basan en principios de detección diferentes y aunque utilizan antígeno procedente de la misma cepa RH de *T. gondii*, son obtenidos por procesos de extracción diferentes. Ello puede explicar los casos de discrepancia entre resultados de las dos técnicas. Si bien nuestro trabajo estuvo orientado hacia la selección de una prueba diagnóstica para uso en un programa de salud pública, nuestros resultados permiten calcular otros índices como la eficiencia que puede interesar al laboratorista clínico o la razón de

probabilidades que puede ser de interés para el clínico en su práctica individual. A pesar de que los índices tales como el VPP o VPN, así como el porcentaje de eficiencia demuestran claramente la superioridad de la técnica ISAgA-IgA, el análisis de sueros con resultados discrepantes muestra que el único caso no detectado por ISAgA IgA lo fue por ELISA. Por ello los valores de la razón de probabilidades pueden tener una utilidad adicional para el clínico en el caso de que desee estimar la utilidad de la prueba frente a un caso particular. La razón de probabilidades permite evaluar la magnitud en la cual la prueba diagnóstica elevará o aumentará la probabilidad preprueba de tener la enfermedad. Una razón de probabilidades mayor de uno, aumentará esta probabilidad y una inferior la disminuirá. Esta probabilidad preprueba será modificada de manera importante con valores mayores de 10 o inferiores a 0.1 y, al contrario, ésta no es modificada por valores entre 1 y 2 ó 0,5 y 1. Esta escala de apreciación demuestra que ELISA-IgA puede tener interés en casos individuales en los cuales existe una sospecha clínica aparente y por lo tanto una probabilidad preprueba mayor (razón de probabilidades para un resultado positivo de tres, frente a casos con IgG presente y de nueve sobre no reactivos) y que al contrario ISAgA-IgA es de importancia en aquellos casos en quienes ésta no existe de ningún modo, es decir una probabilidad preprueba baja (razón de probabilidades para un resultado positivo de 44,1 frente a casos con IgG y de cero en aquellos no reactivos). Así pues nuestro trabajo pone en evidencia la importancia de distinguir entre la aplicación

de una prueba diagnóstica en un programa de investigación masiva y la aplicación en el caso de la consulta clínica individual.

En cuanto a la utilización como prueba de tamizaje de segundo nivel en un programa de salud pública, cada grupo nos permitió comparar la utilización luego de una primera prueba que mida los IgG antitoxoplasma específicos. Los resultados nos demostraron que la mejor estrategia en el caso del tamizaje de segunda intención es utilizándola para los pacientes con pruebas IFI-IgG no reactivas. Esto se puede explicar pues hay una mayor probabilidad de encontrar valores de IgA persistentes en el caso de infecciones antiguas. Al seleccionar solamente a los pacientes no reactivos se eliminó el problema de falsos positivos para toxoplasmosis reciente, lo cual se demuestra por el VPN de 99,1% para ISAGA-IgA.

Nuestros resultados muestran claramente la superioridad de la técnica ISAgA-IgA sobre la técnica ELISA-IgA, para detectar casos de toxoplasmosis activa y para utilización en programas masivos. El problema de especificidad observado con ELISA-IgA puede ser explicado por la existencia de períodos de persistencia bastante

largos con los isotipos IgA antitoxoplasma detectados por ELISA con respecto a los detectados por ISAgA, algo ya reportado por otros autores (7). Este problema se elimina, obviamente, cuando se utilizan sueros no reactivos. Algo bastante interesante es que nosotros hemos podido comparar períodos de duración de inmunoglobulinas antitoxoplasma en pacientes europeos y colombianos, y un hallazgo frecuente ha sido la persistencia por mayor tiempo de estas inmunoglobulinas en los pacientes colombianos (Gomez et al. Observaciones no publicadas). Esto podría tener una relación con diferencias intrínsecas entre cepas de *T. gondii* europeas y colombianas que inducirían una persistencia mayor de las inmunoglobulinas séricas específicas por mayor estimulación del sistema de inmunidad humoral, en el caso de las cepas colombianas. En las condiciones de incidencia de la infección para nuestra región sería inadecuado utilizar la técnica ELISA-IgA antitoxoplasma como prueba de segunda intención en un programa de investigación masiva, en cambio la prueba ISAgA-IgA antitoxoplasma es excelente con este propósito pues todos los casos de toxoplasmosis

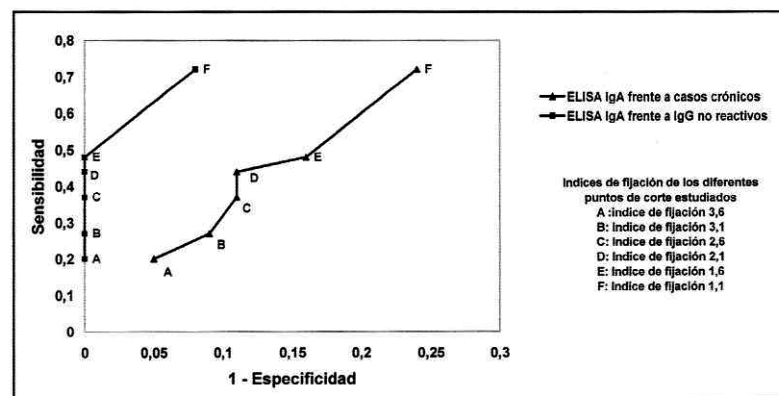


Figura 1. Curva de características operativas del receptor para la prueba ELISA IgA antitoxoplasma

adquirida durante la gestación serían detectados. En los casos con resultados positivos se impone la realización de pruebas adicionales midiendo otros isotipos de anticuerpos (IgM e IgE, prueba de avidéz para IgG) lo cual ya es ampliamente conocido en el diagnóstico de toxoplasmosis maternofetal: una sola técnica serológica no permite el diagnóstico, éste se logra de manera definitiva, a través del conjunto de resultados de un panel de pruebas para diferentes isotipos específicos antitoxoplasma. Si bien la prueba ELISA-IgA sería inadecuada para el diagnóstico prenatal ma-

terno en nuestro medio, podría ser interesante en el caso de los recién nacidos con toxoplasmosis congénita como ha sido la experiencia de otros autores (2) y la nuestra en un caso congénito que fue detectado sólo por Platelia IgA y no por ISAgA-IgM (4). Esto merecería una evaluación futura de la técnica ELISA-IgA para la toxoplasmosis congénita en recién nacidos de nuestro medio.

Si bien nuestro estudio ha permitido la evaluación de características intrínsecas y operativas de dos técnicas serológicas, su aplicabilidad en un programa nacional de

control de toxoplasmosis congénita, se debería evaluar a través de un estudio de costo/beneficio. Este estudio debería tener en cuenta los costos económicos que representan los casos congénitos no tratados versus los costos de un programa de tamizaje masivo materno o neonatal. Este estudio estamos en mora de realizarlo en Colombia. Un sólo caso no detectado, ni prevenido de toxoplasmosis congénita es un desastre social y económico para cualquier país. A manera de ejemplo un trabajo de Roberts y Frenkel (8) demostró que para Estados Unidos, los 3.300 casos anuales de niños con toxoplasmosis congénita, teniendo en cuenta la diversidad de manifestaciones y secuelas y su frecuencia, provocaban costos (en el año de 1978) de 222 millones de dólares. Debemos tener en cuenta que en Colombia a partir de resultados de estudios realizados en diferentes regiones del país, estimamos que se presentan 3.000 casos nuevos de toxoplasmosis congénita cada año (9). Este número de casos se presenta con una población total aproximadamente 10 veces menor a la de Estados Unidos, pero con una incidencia de toxoplasmosis adquirida en el embarazo aproximadamente 10 veces mayor. Creemos que más allá de cualquier implicación económica existe una obligación moral de detectar y tratar los casos de niños con toxoplasmosis congénita. En conclusión, este estudio nos permitió adquirir una experiencia propia sobre sueros colombianos en la medición de anticuerpos IgA antitoxoplasma. En el caso de la realización de un programa de control para la toxoplasmosis adquirida durante el embarazo existen varias posibilidades para

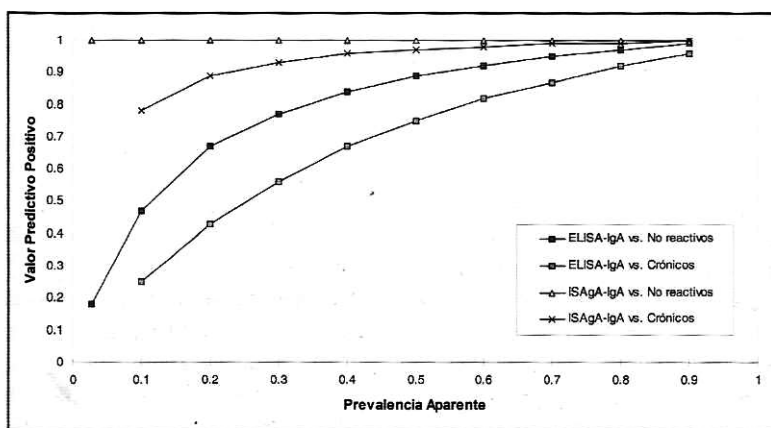


Figura 2. Evolución de los valores predictivos positivos en función de la prevalencia aparente

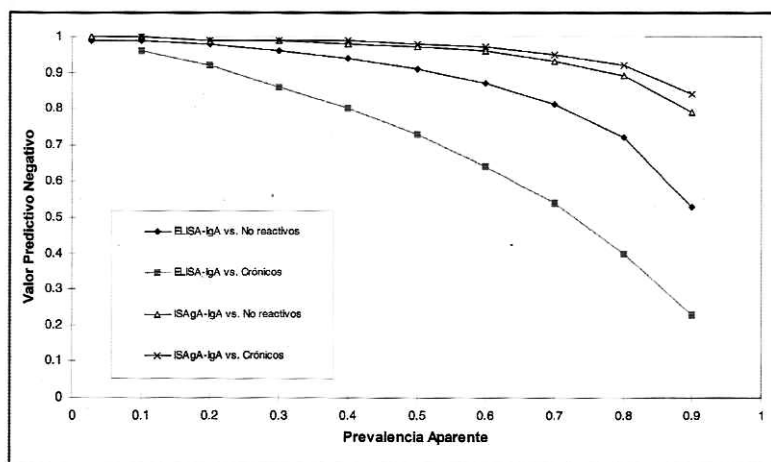


Figura 3. Evolución de los valores predictivos negativos en función de la prevalencia aparente

detectar los casos de adquisición reciente tales como la prueba de avidez IgG o de IgM universal. Nuestro estudio demuestra que ISAgA-IgA podría también tener cabida en este tipo de estrategia diagnóstica. Así una primera prueba permite seleccionar las pacientes con anticuerpos contra el *Toxoplasma*. Esto se puede realizar por pruebas de bajo costo, como por ejemplo la aglutinación en látex para IgG o la aglutinación de alta sensibilidad (ADHS). Los casos con títulos bajos esperan una segunda prueba para observar si hay variación o no. En los casos no reactivos o con títulos altos (p.e. >300 UI) es necesario determinar si existe una toxoplasmosis en curso y para ello la prueba ISAgA-IgA permite una separación final de los casos clínicamente importantes. Igualmente la prueba ISAgA-IgA puede ser utilizada como confirmatoria en un laboratorio de referencia, junto con otras que buscan marcadores de fase aguda, con el fin de detectar casos de toxoplasmosis adquirida recientemente.

#### Agradecimientos

Deseamos expresar nuestro reconocimiento a la colaboración y enseñanzas aportadas por el per-

sonal técnico del Laboratorio de Parasitología Hôpital « Maison Blanche » de Reims (Francia).

#### Summary

**Objectives:** To evaluate two serological techniques that measure specific IgA anti-toxoplasma in order to choose a reference test for recently acquired maternal toxoplasmosis.

**Design:** Evaluation of a diagnostic test.

**Setting:** Reference clinical laboratory for toxoplasmosis, University of Quindío, Armenia Colombia and Laboratory of Parasitology "Hôpital Maison Blanche", Reims, France.

**Sera:** We studied 118 Colombian sera of pregnant women (43 negative sera, 46 chronically infected sera and 29 recently infected sera).

**Results:** We obtained with ELISA-IgA a sensitivity of 72% to detect recently acquired toxoplasmosis, an specificity of 76% in chronically infected sera and an specificity of 92% in negative sera. With ISAgA-IgA the sensitivity was of 97%, specificity of 97% in chronically infected sera and of 100% in negative sera.

**Conclusion:** The ISAgA-IgA anti-toxoplasma is the test of choice to be used in a program for

maternal toxoplasmosis in our conditions.

#### Referencias

1. Montoya MT, Gómez JE, Castaño JC, Marx C, Aubert D, Bonhomme A, et al. Avances diagnósticos en toxoplasmosis PCR, nuevos marcadores de infección evolutiva y otras técnicas. *Med Colomb* 1996;**21**:127-138.
2. Decoster A, Slizewic B, Simon J, Bazin C, Darcy F, Vittu G, et al. Platelia Toxo IgA, a new kit for early diagnosis of congenital toxoplasmosis by detection of anti-P30 immunoglobulin antibodies. *J Clin Microbiol* 1991; **10**: 2291-2295.
3. Gogievski-Hrisoho M, Germann D, Matter L. Diagnostic implications of kinetics of immunoglobulin M and A antibody responses to *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 1996;**34**: 1506-1575.
4. Gómez JE, Montoya de Londoño MT, Castaño JC. A maternal screening program for congenital toxoplasmosis in Quindío, Colombia and application of mathematical models to estimate incidences using age-stratified data. *Am J Trop Med Hyg* 1997;**57**: 180-186.
5. Riegelman RK, Hirsch RP. Definición de enfermedad : La prueba de oro. *Bol OPS* 1991;**3**:535-547.
6. Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL. Users' Guides to medical literature. III How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? *J Am Med Assoc* 1994; **271**: 703-707.
7. Foudrinier F, Marx-Chemla C, Aubert D, Bonhomme A, Pinon JM. Value of specific immunoglobulin A detection by two immunocapture assay in the diagnosis of toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; **14**: 585-590.
8. Roberts T, Frenkel JK. Estimating income losses and other preventable costs caused by congenital toxoplasmosis in people in United states. *J Am Vet Med Assoc*. 1990; **196**:249-256.
9. Gómez JE, Castaño JC, Montoya MT. Toxoplasmosis congénita en Colombia: un problema subestimado de salud pública. *Colombia Médica* 1995; **26**:66-70.